

POTENSI BAKTERI ENDOFIT TANAMAN SARANG SEMUT (*Myrmecodia pendens*) SEBAGAI PENGHASIL ANTIOKSIDAN



Skripsi

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains
Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

RIZKY AWALYA ZHAPUTRI

NIM. 60300112011

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN ALAUDDIN MAKASSAR**
2016

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rizky Awalya Zhaputri
NIM : 60300112011
Tempat/Tgl. Lahir : Bulukumba, 2 Juli 1994
Jur/Prodi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Alamat : jl Toddopuli V stapak VIII blok 32 no 26 Makassar
Judul : Potensi Bakteri Endofit Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) sebagai penghasil Antioksidan.

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika di kemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, 29 Agustus 2016
Penyusun,

Rizky Awalya Zhaputri
NIM: 60300112011

KATA PENGANTAR



Segala puji bagi Allah SWT, atas rahmat dan hidayah-Nya. Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Panyayang, Kami panjatkan puja dan puji syukur atas kehadiran-Nya, yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan inayah-Nya kepada kami, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **"Potensi Bakteri Endofit Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) sebagai Penghasil Antioksidan"**.

Terlepas dari semua itu, kami menyadari sepenuhnya bahwa masih ada kekurangan baik dari segi susunan kalimat maupun tata bahasanya. Oleh karena itu dengan tangan terbuka kami menerima segala saran dan kritik dari pembaca agar kami dapat memperbaiki skripsi ini.

Skripsi ini telah kami susun dengan maksimal dan mendapatkan bantuan dari berbagai pihak sehingga dapat memperlancar pembuatan skripsi ini. Untuk itu kami menyampaikan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam pembuatan skripsi ini.

Sebuah persembahan dan terima kasih yang khusus penulis persembahkan kepada Ibunda **Husmayanti Malle** yang telah mencurahkan seluruh kasih sayangnya, berkorban dan telah bekerja keras membesarkan dan

membiayai penulis hingga dapat menyelesaikan pendidikan pada bangku kuliah hingga mendapatkan gelar Sarjana.

Olehnya secara mendalam saya sampaikan banyak terima kasih kepada semua yang membantu dalam penyelesaian skripsi ini diantara:

1. Prof. Dr. Musafir Pabbari, M.Si., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar yang telah memberikan kebijakan-kebijakan membangun UIN Alauddin Makassar agar lebih berkualitas sehingga dapat bersaing dengan Universitas lainnya.
2. Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, beserta Wakil Dekan I, Wakil Dekan II, Wakil Dekan III, dan seluruh staf administrasi yang telah memberikan berbagai fasilitas kepada kami selama masa pendidikan.
3. Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Kes., selaku ketua jurusan, sebagai Penasehat Akademik dan sebagai Pembimbing I dalam penulisan skripsi yang telah meluangkan waktunya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
4. St. Aisyah S. S.Pd, M.Kes., selaku pembimbing II dalam penulisan skripsi yang telah meluangkan waktunya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Dr. Muh. Khalifah Mustari, M.Pd., selaku pembahas I, Hafsan, S.Si, M.Pd., selaku pembahas II, dan Dr. Hasyim Haddade M.Ag., selaku pembahas III.

6. Bapak dan Ibu dosen dalam jajaran Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar yang selama ini telah mendidik penulis dengan baik, sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikannya pada tingkat perguruan tinggi.
7. Ulfa Triyani A.Latif S.Si, M.Si yang telah memberikan bantuan berupa sampel penelitian dan nasehat yang tiada hentinya.
8. Bapak dan Ibu pegawai Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin (RSP UNHAS) yang senantiasa membimbing selama penelitian berlangsung.
9. Kepada adik laki-laki ku tersayang Wahyu Nusantara Ajie terima kasih atas semangatnya dik.
10. Kepada saudara dan saudari dari ibu saya paman Awis, tante Lina, paman Accang, Macci Arni, Paman Ruru dan Paman Riri, serta Drs. Hj. Hamzatung Madras, nenek yang selalu memberi semangat dan do'a serta bantuan materi sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhirnya.
11. Saudara seperjuanganku Asrianti Basri S.Si, Suriani S.Si serta teman-teman kelas A **BANTA** (*Biological An Nidus To Affection*) 2012 yang senantiasa memberikan semangat, saran dan bantuannya, serta setia menemani penulis dalam suka maupun duka.
12. Teman-teman “**RANVIER**” (Biologi angkatan 2012) yang senantiasa memberikan motivasi dan menghadirkan cerita kurang lebih 4 tahun.

13. Terkhusus kak Aiman Adnan yang menjadi *moodbooster* saya selama menyelesaikan penelitian dan pembuatan skripsi ini.
14. Teman sekaligus saudara Ratih, Debi, Ina, Nissa, Irma, Riri, Indy, Kiki, Ichal, Yoga, Dina, Vivi, Ungga, Darni, Tuti, Uci atas semangatnya dan Wiwi Jasal yang setia menemani dari masa penelitian sampai penyebaran SK Undangan untuk para penguji serta semua yang selalu memberikan semangat.
15. Untuk salah satu laboran sekaligus kakak yang selalu memberikan wejangan kak Zulkarnain, S.Si, M.Si.
16. Teman-Teman KKNP-VI di BBVET Kabupaten Maros.
17. Serta semua pihak yang telah membantu dalam penulisan tugas akhir ini yang tidak dapat dituliskan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa karya sederhana ini jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat konstruktif dari pada pembaca, sebagai bahan perbaikan kedepannya. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca umumnya. Semoga kita selalu dalam lindungan Allah yang dilimpahkan rahmat dan ridho-Nya. Amin

Makassar, 29 Agustus 2016

Penulis

DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
 BAB I PENDAHULUAN	 1-9
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Ruang Lingkup Penelitian	5
D. Kajian Pustaka / Penelitian Terdahulu	6
E. Tujuan Penelitian	9
F. Kegunaan Penelitian	9
 BAB II TINJAUAN TEORITIS	 10-42
A. Tinjauan Umum Bakteri Endofit	10-14
B. Tinjauan Umum Tanaman Sarang Semut.....	14-26
C. Tinjauan Umum Antioksidan.....	27-37
D. Ayat dan Hadis yang Relevan	38-44
E. Kerangka Pikir	44
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	 45-48
A. Jenis dan Lokasi Penelitian	45
B. Pendekatan Penelitian	45
C. Variabel Penelitian.....	45
D. Defenisi Operasional Penelitian	46
E. Metode Pengumpulan Data	46
F. Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan)	46
G. Prosedur Kerja	47
H. Analisis Data	48

BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	49-55
	A. Hasil Penelitian	49
	B. Pembahasan	51
BAB V	PENUTUP	56
	A. Kesimpulan	56
	B. Implikasi Penelitian (Saran)	56
	KEPUSTAKAAN	57-60
	LAMPIRAN-LAMPIRAN	61-64
	RIWAYAT HIDUP	65

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 % <i>Scavenging Effect</i> yang diperoleh pada isolat	50
---	----

DAFTAR ILUSTRASI

Gambar 2.1 Umbi Batang Tanaman Sarang Semut (<i>Myrmecodia pendens</i>).....	22
Gambar 2.2 Struktur Umum Falvonoid	23
Gambar 2.3 Jenis-jenis Flavonoid	24
Gambar 2.4 Proses terjadinya Radikal Bebas di dalam Tubuh Manusia.....	27
Gambar 4.1 Hasil Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Sarang Semut	49
Gambar 4.2 Radikal DPPH dengan Antioksidan	52

ABSTRAK

Nama : Rizky Awalya Zhaputri
NIM : 60300112011
Judul Skripsi : **Potensi Bakteri Endofit Tanaman Sarang Semut**
(*Myrmecodia pendens*) terhadap Antioksidan

Mikroba endofit dapat ditemukan hampir di semua tumbuhan di muka bumi ini dan merupakan mikroba yang tumbuh di dalam jaringan tumbuhan. Bakteri endofit didefinisikan sebagai bakteri yang seluruh atau sebagian siklus hidupnya berada dalam jaringan tanaman dan berasosiasi dengan tanaman inang dengan berada dalam seluruh jaringan tanaman, tetapi tanpa menyebabkan gejala penyakit pada tanaman inang tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi bakteri endofit tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) dalam menghasilkan senyawa antioksidan. Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode DPPH, yaitu larutan DPPH dihomogenkan dengan larutan sampel dan diuji absorbansinya menggunakan spektrofotometer. Berdasarkan hasil penelitian dari 3 isolat bakteri yang didapatkan semua isolat yang mampu menghasilkan senyawa antioksidan yaitu *Bacillus pumilus*, *Bacillus* sp (1) dan *Bacillus* sp (2) dengan persentasi penghambatannya masing-masing adalah 0,37%, 0,15% dan 0,31%. Kemampuan antioksidan suatu zat dipengaruhi oleh banyaknya zat tersebut menangkap elektron.

Kata kunci : Bakteri endofit, antioksidan, metode DPPH.

ABSTRACT

Name : Rizky Awalya Zhaputri
Student ID Number : 60300112011
Title : Potential Plant Endophytic Bacteria Ants Nest
(Myrmecodia pendens) against Antioxidants

Endophytic microbes can be found in almost all plants on earth and is a microbe that grew in the plant tissue. The endophytic bacteria was defined as the whole or partial bacterial life cycle is in plant tissue and associated with host plants to be in all plant tissues, but without causing the symptoms of the disease on the host plant. This study was conducted to determine the potential of the plant endophytic bacteria anthill (*Myrmecodia pendens*) in producing antioxidant compounds. Tests carried out using DPPH, namely DPPH solution was homogenized with an absorbance of the sample solution and tested using a spectrophotometer. Based on the results of the 3 isolates obtained all isolates were able to produce antioxidant compounds that X, Y and Z as a percentage inhibition, respectively 0,37%, 0,15% dan 0,31%. Antioxidantability of a substance is influenced by the amount of these substances capture electrons.

Keywords: endophytic bacteria, antioxidant, DPPH

BAB I

PENDAHULUAN

A. *Latar Belakang*

Publikasi populer tentang tanaman sarang semut yang dianggap mampu mengatasi kanker, asam urat, liver, stroke, jantung, wasir (ambien), nyeri punggung, alergi, sebagai tonikum hingga meningkatkan gairah seksual telah banyak mendapat perhatian. Meskipun demikian, tanaman sarang semut masih sulit ditemukan dalam publikasi-publikasi ilmiah (jurnal, prosiding), dokumen paten, dokumen-dokumen elektronik (internet), baik di dalam maupun luar negeri. Kalaupun ada hal tersebut hanya terbatas pada publikasi tentang sebaran, ekologi, etnobotani dan taksonominya saja (Huxley 1993).

Hasil uji penapisan kimia, diketahui tanaman sarang semut mengandung senyawa kimia golongan flavonoid dan tannin. Flavonoid merupakan antioksidan alam yang mampu bertindak sebagai pereduksi radikal hidroksil, super oksida dan radikal peroksil. Selain itu juga mengandung 313 ppm tokoferol yang meredam 96% radikal bebas pada konsentrasi 12 ppm. (Subroto & Saputro, 2006). PPM atau *part per million* merupakan satuan yang sering digunakan untuk menunjukkan kandungan suatu senyawa dalam suatu larutan. Seperti halnya namanya yaitu PPM, maka konsentrasinya merupakan perbandingan antara berapa bagian senyawa dalam satu juta bagian suatu sistem.

Salah satu dari penyakit degeneratif yang paling ditakuti adalah kanker, yang biaya pengobatannya mahal dan tidak ada jaminan bagi penderita untuk dapat sembuh secara total, atau sewaktu-waktu dapat kambuh kembali. Sampai saat ini teknik pengobatan kanker yang lazim dilakukan adalah dengan cara pembedahan, radioterapi dan kemoterapi yang memerlukan waktu sangat panjang. Penyakit degeneratif ini disebabkan karena antioksidan yang ada di dalam tubuh tidak mampu menetralkan peningkatan konsentrasi radikal bebas. Radikal bebas adalah molekul yang pada orbit terluarnya mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sifatnya sangat labil dan sangat reaktif sehingga dapat menimbulkan kerusakan pada komponen sel seperti DNA, lipid, protein dan karbohidrat. Kerusakan tersebut dapat menimbulkan berbagai kelainan biologis seperti arterosklerosis, kanker, diabetes dan penyakit degeneratif lainnya (Chen, 1996).

Peranan antioksidan sangat penting dalam menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga merusak biomolekul, seperti DNA, protein, dan lipoprotein di dalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif, seperti kanker, jantung, artritis, katarak, diabetes dan hati (Silalahi, 2002).

Suatu tanaman dapat memiliki aktivitas antioksidan apabila mengandung senyawaan yang mampu menangkal radikal bebas seperti fenol dan flavonoid. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat hubungan antara kandungan

fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian Kao (2007) menunjukkan bahwa kandungan fenol dan flavonoid dalam blackberry berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan. Sementara Khamsah (2006) dalam penelitiannya menyatakan bahwa aktivitas antioksidan tidak hanya bergantung pada kandungan total fenol tetapi juga dipengaruhi oleh senyawa lain, seperti asam ursolat, asam betulinat, dan asam oleat yang terdapat dalam *Orthosiphon stamineus*.

Indonesia merupakan negara yang memiliki area hutan hujan tropis yang luas. Hutan hujan tropis merupakan sumber tumbuh-tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif yang potensial. Mikroba endofit dari jaringan tumbuhan yang tumbuh di hutan hujan tropis juga memiliki aktivitas biologi yang tinggi (Strobel, 2003).

Sumber daya mikroba yang terdapat di dalam jaringan tanaman beberapa tahun terakhir ini mulai banyak mendapat perhatian. Mikroba tersebut mulai dipelajari untuk berbagai tujuan. Mikroba endofit yang berasal dari rumput telah diaplikasikan untuk keperluan industri dan pertanian, namun masih banyak mikroba endofit belum diketahui karakter dan potensinya (khususnya di Indonesia) (Clay, 1988).

Mikroba endofit dapat ditemukan hampir di semua tumbuhan di muka bumi ini dan merupakan mikroba yang tumbuh di dalam jaringan tumbuhan. Mikroba endofit dapat diisolasi dari akar, batang dan daun suatu tumbuhan.

Bakteri dan fungi adalah jenis mikroba yang umum ditemukan sebagai mikroba endofit (Strobel, 2003).

Bakteri endofit dinilai lebih efisien digunakan sebagai agen penghasil senyawa tertentu karena waktu yang dibutuhkan oleh bakteri dalam memperbanyak diri relatif singkat dan tidak membutuhkan lahan yang luas dalam produksinya, sehingga akan lebih cepat dan mudah jika dibandingkan dengan mengambil senyawa aktif dari tanaman (Fadhilah, 2012). Selain itu bakteri endofit juga potensial menghasilkan suatu senyawa baru karena dapat menghasilkan senyawa metabolit yang serupa dengan metabolit inangnya.

Studi molekuler terbaru tentang bakteri endofit memperlihatkan keanekaragaman yang sangat besar dari spesies ini. Beberapa endofit terdapat dalam benih, tetapi lainnya, ada yang melalui proses kolonisasi pada tanaman. Bakteri ini dapat mengeluarkan senyawa protein untuk mempermudah dalam proses kolonisasi. Ekspresi gen tumbuhan menunjukkan bahwa, tumbuhan menyediakan tanda khusus untuk dapat dipengaruhi oleh bakteri endofit (Rosenblueth dan Martínez Romero, 2008).

Beberapa jenis bakteri endofit diketahui mampu menghasilkan senyawa aktif yang bersifat antioksidan (Castillo, 2003). Kemampuan bakteri endofit menghasilkan senyawa aktif tersebut merupakan potensi yang dapat dikembangkan mengingat umumnya senyawa aktif diperoleh dengan mengekstraksi tanaman, khususnya tanaman obat. Untuk memperoleh senyawa

aktif dari tanaman dibutuhkan waktu dan proses yang lebih rumit dibandingkan jika mengekstraksi senyawa dari bakteri.

Sehubungan dengan hal tersebut, maka dalam penelitian ini hendak dilakukan pengujian terhadap bakteri endofit tanaman sarang semut yang diduga potensial dalam menghasilkan bahan-bahan antioksidan. Sejauh ini belum dilaporkan adanya isolasi bakteri endofit dari tanaman sarang semut serta pengujian terhadap senyawa aktif yang diproduksi bakteri endofit dari tanaman sarang semut. Penelitian ini bertujuan melakukan penapisan awal untuk memperoleh isolat bakteri endofit yang berpotensi menghasilkan senyawa antioksidan.

B. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana kemampuan bakteri endofit dari tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) menghasilkan antioksidan?

C. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup atau batasan-batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bakteri endofit yang digunakan berasal dari tanaman sarang semut (bagian umbi batang) yang diperoleh dari Papua.
2. Uji analisis antioksidan dengan metode radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*).

D. Kajian Pustaka / Penelitian Terdahulu

Penelitian ini belum pernah dilakukan sebelumnya, namun sudah banyak referensi mengenai potensi bakteri endofit pada tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendans*) dan referensi mengenai tanaman penghasil antioksidan.

Penelitian yang berkaitan dilakukan oleh:

1. Ukhradiya Magharaniq Safira Purwanto dengan judul Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. Kemampuan bakteri endofit menghasilkan senyawa aktif tersebut merupakan potensi yang dapat dikembangkan mengingat umumnya senyawa aktif diperoleh dengan mengekstraksi tanaman, khususnya tanaman obat. Untuk memperoleh senyawa aktif dari tanaman dibutuhkan waktu dan proses yang lebih rumit dibandingkan jika mengekstraksi senyawa dari bakteri. Berdasarkan hasil penapisan diperoleh 3 isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas potensial (ditandai dengan terbentuknya zona hambat) terhadap *S. aureus*. Terbentuknya zona hambat mengindikasikan kemungkinan adanya senyawa yang memiliki efek antibakteri. Ketiga isolat tersebut adalah isolat dengan kode AS1, BS1 dan BS2. Isolat yang menunjukkan zona hambat terbesar adalah BS1 sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat tersebut merupakan isolat yang paling potensial sebagai penghasil senyawa antibakteri.

2. Isolasi Mikroba Endofit Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*)

dan Analisis Potensi sebagai Antimikroba oleh Yuliana Retnowati. Target capaian pada penelitian ini adalah mendapatkan mikroba endofit dari tanaman sarang semut dan menganalisis potensinya dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Metode pencapaian didasarkan metode deskriptif yang menggambarkan diversitas mikroba endofit tanaman sarang semut dan kemampuannya dalam penghasilan senyawa antimikroba. Isolasi mikroba endofit didasarkan pada metode F. Tomita dengan medium tumbuh *Nutrient Agar*, *Potato Dextrosa Agar* dan *Starch Casein Agar*, dilanjutkan dengan uji aktifitas antimikroba dengan metode *paper disk* terhadap bakteri uji *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian diperoleh 9 (sembilan) mikroba endofit yang terdiri atas 4 bakteri, 2 actinomycetes, 2 kapang dan 1 khamir. Hasil uji potensi sebagai antimikroba diperoleh bahwa kesembilan mikroba endofit tersebut tidak berpotensi sebagai antimikroba.

3. Uji Aktivitas Antioksidan Umbi Bawang Dayak (*Elheuterinebulbosa* Merr.)

oleh Anita Sarah Hidayah, Kiki Mulkiya dan Leni Purwanti. Bawang sabrang atau bawang dayak merupakan tanaman khas Kalimantan Tengah yang memiliki kandungan senyawa fitokimia yakni, alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, steroid dan tannin. Ekstraksi dilakukan dengan metode refluks menggunakan tiga pelarut, menghasilkan ekstrak etanol 70%, ekstrak etil asetat

dan ekstrak n-heksan. Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil).

4. Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Cengkeh (*Eugenia Carryophyllus*) dengan Metode DPPH oleh Johnly Alfrets Rorong. Salah satu metode untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil). Metode DPPH digunakan untuk menguji kemampuan suatu komponen sebagai penangkal radikal bebas dalam suatu bahan atau ekstrak. Keunggulan dari metode DPPH adalah dapat dikerjakan secara cepat dan sederhana. Semua ekstrak daun cengkeh memiliki aktivitas sebagai penangkap radikal bebas atau antioksidan. Untuk aktivitas tertinggi adalah ekstrak soxhletasi maserasi etanol (ESME) diikuti ekstrak etanol maserasi (EEM) kemudian ekstrak soxhletasi heksan (ESH). Untuk analisis kandungan total fenol dari ekstrak diperoleh bahwa semua ekstrak memiliki senyawa fenol dengan kandungan total fenol tertinggi adalah ESME kemudian EEM dan ESH.
5. Fenella M War Nongkhlaw and S R Joshi dengan judul penelitian *L-Asparaginase and antioxidant activity of endophytic bacteria associated with ethnomedicinal plants*.

E. Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi bakteri endofit dari tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) yang mampu menghasilkan antioksidan.

F. Kegunaan Penelitian

Adapun kegunaan dari penelitian ini yaitu:

1. Penelitian ini berguna untuk memberikan informasi dan wawasan terhadap pengembangan ilmu pengetahuan biologi dan khususnya mata kuliah Mikrobiologi.
2. Tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendans*) ini telah banyak dikonsumsi masyarakat sebagai obat beberapa macam penyakit.
3. Untuk menambah referensi dari masyarakat awam, serta dapat dijadikan sumber informasi bagi penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN TEORITIS

A. Tinjauan Umum Bakteri Endofit

Indonesia merupakan negara yang memiliki biodiversitas yang tinggi dan kawasan hutan hujan tropis yang luas sehingga merupakan satu kelebihan dalam pencarian sumber-sumber senyawa bioaktif. Stanford (1986) menyatakan bahwa sebagian besar komponen kimia yang berasal dari tanaman yang digunakan sebagai obat atau bahan obat adalah merupakan metabolit sekunder. Menurut Strobel & Daisy (2003), senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari jaringan tumbuhan yang tumbuh di hutan tropis memiliki aktivitas biologi yang tinggi.

Sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroorganisme endofit yang terdiri dari bakteri atau fungi. Mikroorganisme endofit dapat ditemukan pada berbagai jaringan tanaman diantaranya biji, ovula, buah, batang, akar, umbi akar dan daun tetapi tidak menyebabkan penyakit pada tanaman tersebut (Barac, 2004).

Bakteri endofit didefinisikan sebagai bakteri yang seluruh atau sebagian siklus hidupnya berada dalam jaringan tanaman dan berasosiasi dengan tanaman inang dengan berada dalam seluruh jaringan tanaman, tetapi tanpa menyebabkan

gejala penyakit pada tanaman inang tersebut. Jika dilihat dari sistem taksonomi, bakteri endofit merupakan makhluk hidup yang berada pada sistem yang paling rendah yang tidak dapat diamati. Sehingga jelaslah bahwa Allah swt selain menciptakan makhluk yang dapat dilihat secara langsung, juga menciptakan berbagai macam jenis makhluk hidup yang tidak dapat dilihat secara langsung atau lebih kecil (Rodewald, 2009).

Menurut Ramamoorth, (2001) dalam Firmansah (2008), bakteri endofit dapat dijadikan sebagai agen pemacu pertumbuhan, bakteri endofit berasosiasi dengan jaringan internal tanaman dengan mengadakan suatu rangsangan pertumbuhan yang relatif sama seperti PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Beberapa bakteri endofit mempunyai pengaruh yang menguntungkan bagi tanaman inang, seperti memacu pertumbuhan tanaman, meningkatkan resistensi tanaman dari patogen, dan meningkatkan fiksasi N bagi tanaman. Bakteri endofit awalnya berasal dari lingkungan eksternal dan masuk ke dalam tanaman melalui stomata, lentisel, luka (seperti adanya trichomes yang rusak), melalui akar lateral dan akar yang berkecambah (Kaga, 2009).

Endofit juga dapat memberikan keuntungan lain pada tanaman. Pertumbuhan tanaman dapat dipercepat oleh semua kelompok endofit, juga memudahkan dalam penyerapan nutrisi, atau mensintesis hormon tanaman. Masuknya endofit secara alami dalam tanaman dapat dimanipulasi. Ketika dalam tanaman, endofit menempati relung kompetisi yang lebih tinggi dari

mikroorganisme lainnya, karena endofit lebih dulu berada di tempat tersebut (Dubois, 2006).

Mikroorganisme endofit merupakan bagian dari mikroflora alamiah dari tanaman yang sehat di lapangan, mikroba ini sebagai kontributor penting bagi kesehatan tanaman, telah diketahui pula bahwa dapat berpengaruh pada kesehatan dan kesuburan tanaman dalam hal yang dapat merusak tanaman. Karena sifat-sifat tersebut bakteri endofit telah terbukti dapat dimanfaatkan sebagai pengendali penyakit tanaman dan serangan dari hama yang menyebabkan tanaman rusak (Simarmata, 2007).

Sturz (2006) menyatakan bahwa, bakteri endofit ditemukan mampu melawan invasi fitopatogen. Adapun lima mekanisme penghambatan patogen oleh bakteri yang sering disebutkan adalah:

1. Kompetisi sumber daya (unsur hara). Sebagai contoh siderophore (chelator), dihasilkan oleh bakteri dalam jumlah yang sangat banyak, untuk bersaing memanfaatkan unsur-unsur mineral spesifik sehingga dapat menghambat fitopatogen untuk memenuhi unsur-unsur kebutuhannya pada mineral-mineral yang terbatas.
2. Menghasilkan antibiosis; pada mulanya diketahui bahwa bakteri mampu memproduksi metabolit antibakteri, antijamur dan antinematoda. Beberapa antibiotik telah diidentifikasi, seperti yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* sp., zat yang berfungsi sebagai antibiotik tersebut diantaranya

adalah phloroglucinols, phenazine derivative, pyoluteorin, pyrrolnitrin, siklus lipopeptides dan sianida hydrogen, dan zat antibiotik lainnya adalah agrocin 30 84 (*Agrobacterium* sp.), Herbicolin A (*Erwinia* sp.), Iturin A, surfactin, dan zwittermicin A (*Bacillus* sp.) dan xanthobacin (*Stenotrophomonas* sp.).

3. Aktivitas enzim lytic: Beberapa jenis bakteri yang berfungsi sebagai agen pengendali terbukti benar, dan biasanya mengakibatkan degradasi dinding sel patogen atau mengakibatkan gangguan pada bagian-bagian tertentu. Sebagai contoh enzim kitinase yang diproduksi oleh *Serratia plymuthica* dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan spora dan elongasi jaringan (germ-tube) pada *Botrytis cinerea*. Sedangkan enzim β -1,3-glucanase yang disintesis dari *Paenibacillus* sp. and *Streptomyces* sp. Dapat menyebabkan lisis pada dinding sel jamur *Fusarium oxysporum* dan enzim lain yang diproduksi oleh bakteri tersebut meliputi hydrolase, laminarinase and protease.
4. Sistem resistensi pada tanaman: bakteri mempengaruhi gen ketahanan dengan melalui produksi jasmonate yang disandikan, peroxidase atau enzim yang terlibat dalam sintesis phytoalexins. Sampai sekarang bukti keterlibatan liposakarida, siderophores dan phloroglucinols telah banyak diketahui.

5. Kamuflase akar. Hal ini berarti bahwa beberapa bakteri yang bersifat resisten pada beberapa jenis penyakit meminimalkan “ketertarikan alami” pada sistem akar inang dengan meningkatkan kepadatan populasi untuk menghindari kehadiran patogen tanaman.

Bakteri endofit dapat masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya melalui akar, namun bagian tanaman yang terpapar udara langsung seperti bunga, batang, daun (melalui stomata) dan kotiledon, juga dapat menjadi jalur masuk bakteri endofit. Bakteri endofit yang telah masuk ke dalam tanaman dapat tumbuh hanya di satu titik tertentu atau menyebar ke seluruh tanaman. Mikroorganisme ini dapat hidup di dalam pembuluh vaskular atau di ruang intersel (Zinniel, 2002), akar, batang, daun dan buah (Simarmata, 2007).

B. Tinjauan Umum Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*)

Sarang semut merupakan kumpulan tumbuhan epifit (menumpang hidup di pohon lain, seperti anggrek) dari genus *Myrmecodia* dan *Hydnophytum*. Terkadang disebut juga sebagai benalu hutan, meskipun sejatinya tumbuhan ini bukanlah benalu yang bersifat parasit. Tumbuh di wilayah Asia Tenggara hingga kawasan Pasifik seperti Kepulauan Solomon, tumbuhan sarang semut memiliki puluhan spesies. Sarang semut dari genus *Hydnophytum* memiliki sekitar 55 spesies, sedangkan dari genus *Myrmecodia* terdiri atas sekitar 26 spesies. Indonesia, terutama pulau Papua, menjadi daerah dengan jumlah spesies sarang semut terbanyak (Anonim, 2012).

Menurut Tjitrosoepomo (1985) morfologi dan karakterisasi tumbuhan yaitu:

a. Habitat

Tumbuhan perdu parasit-epifit ini dapat berasosiasi dengan semut. Secara ekologi tumbuhan sarang semut tersebar di hutan bakau dan pohon-pohon di pinggir pantai hingga ketinggian 30 - 45 cm serta golongan tumbuhan berumur panjang (perennial). Perkembangbiakannya secara generatif yaitu dengan menghasilkan biji. Tanaman ini berasal dari daratan Papua.

b. Daun (*Folium*)

Daun tunggal, bertangkai, tersusun menyebar namun lebih banyak terkumpul di ujung batang, warna hijau, bentuk jorong, panjang 20 - 40 cm, lebar 5 - 7 cm, helaian daun agak tebal - lunak, ujung tumpul (obtusus), pangkal meruncing, tepi rata, permukaan halus, tulang daun berwarna putih. Daunnya tebal seperti kulit. Pada beberapa spesies memiliki daun yang sempit dan panjang. Stipula (penumpu) besar, persisten, terbelah dan berlawanan dengan tangkai daun (petiol), serta membentuk seperti “telinga” pada klieoli. Terkadang terus berkembang menjadi sayap di sekitar bagian atas klieolus.

c. Umbi Batang

Batang sekaligus umbi pada tanaman *Myrmecodia pendes* ini memiliki ciri-ciri berkayu, silindris, jarang ada yang bercabang, jika ada hanya satu atau beberapa cabang saja. Bahkan ada beberapa spesies yang tidak memiliki cabang sama sekali. Batangnya tebal dan internodalnya sangat dekat, kecuali pada pangkal sarang semut dari beberapa spesies. Saat muda pangkalnya menggelembung berbentuk bulat, kemudian menjadi lonjong memendek dan memanjang. Saat tua diameter pangkal batang kadang bisa mencapai 30 cm, berwarna coklat muda hingga abu-abu, permukaan dipenuhi duri-duri tajam, bagian dalam berbentuk rongga bersekat-sekat dan biasa dijadikan tempat tinggal koloni semut.

d. Bunga

Bunga berwarna putih. Pembungaan dimulai sejak adanya beberapa ruas (internodal) pada tiap-tiap nodus (buku). Dua bagian pada setiap bunga berkembang pada suatu kantong udara (alveolus) yang berbeda. Alveoli tersebut mungkin ukurannya tidak sama dan terletak pada tempat yang berbeda di batang. Kuntum bunga muncul pada dasar alveoli. Setiap bunga berlawanan oleh suatu brakteola. Bunga jarang kleistogamus (menyerbuk tidak terbuka) dan terkadang heterostilus. Kelopak biasanya terpotong. Polennya 1-, 2-, atau 3- porat (kolporat) dan sering 1, 2, atau 3 visikel sitoplasma yang besar.

e. Akar

Myrmecodia pendens yang merupakan tanaman epifit pada habitat aslinya hidup menempel di tanaman lain, perlu difahami bahwa *Myrmecodia pendens* bukan tanaman parasit yang menghisap sari makanan inangnya, tetapi hanya ikut menempel dan mendapatkan keuntungan dengan hidup di tempat yang tinggi untuk memperoleh cahaya, udara dan nutrisi yang lebih baik dibandingkan hidup di tanah. Akar *Myrmecodia pendens* mirip dengan akar anggrek. Akar ini lunak, bersifat spongy karena memiliki lapisan velamen, dindingnya licin tetapi pada ujung akar biasanya sedikit lengket. Ujung akar juga bisanya berkedudukan lebih padat dan berwarna coklat atau keabuan dan memilki kemiripan dengan warna umbinya. Tanaman ini juga memiliki akar aerial atau akar yang keluar dari batang, umumnya besar dan bercabang.

f. Buah

Buah berkembang dalam alveolus dan memanjat pada dasarnya menjadi menonjol keluar hanya setelah masak. Buahnya disebut buah beri, bulat, berwarna oranye.

Kestabilan suhu di pada tanaman sarang semut membuat yang membuat semut-semut betah menghuninya. Dalam jangka waktu lama terjadilah reaksi kimia secara alami antara senyawa yang dikeluarkan semut dengan zat aktif yang

dikandung sarang semut. Hasil reaksi ini dapat dimanfaatkan untuk pengobatan (Alam, 2006).

Secara morfologi tumbuhan epifit ini memang mirip seperti sarang semut, sejak dari biji berkecambah batang bagian bawahnya secara progresif menggelembung dengan sendirinya. Dalam waktu beberapa bulan, di dalam batang terbentuk rongga-rongga yang cukup kompleks mirip sarang semut. Rongga-rongga inilah yang pada akhirnya akan menarik perhatian jenis-jenis semut tertentu untuk datang dan akhirnya membentuk koloni di dalam tumbuhan sarang semut tersebut. Peristiwa di atas akan menjalin suatu hubungan timbal balik antara semut dengan tumbuhan tersebut yang dikenal dengan sebutan simbiosis mutualisme (kedua belah pihak saling menguntungkan). Keuntungan bagi semut adalah semut mendapatkan nutrisi dan tempat tinggal dari tumbuhan. Sedangkan tumbuhan sendiri mendapatkan perlindungan terhadap ancaman herbivora (pemakan tanaman) seperti ulat dan juga menyediakan pupuk organik bagi tanaman dalam bentuk debris (limbah) semut. Sarang semut (*Myrmecodia Jack*) yang berasal dari Famili Hydnophytinae (Rubiaceae) berepifit (menempel) pada tumbuhan lain, namun tidak hidup secara parasit pada inangnya (Subroto & Saputro, 2006).

Genus tumbuhan sarang semut dibagi menjadi beberap spesies berdasarkan struktur umbinya. Ditemukan sebanyak 26 spesies sarang semut. Semua spesies dari tumbuhan tersebut memiliki batang menggelembung dan

berongga-rongga serta dihuni oleh semut. Tumbuhan ini dapat ditanam dengan mudah tanpa adanya semut dan tetap membentuk batang menggelembung dan berongga-rongga secara normal.

Adapun klasifikasi *Myrmecodia pendens* menurut Subroto (2006) adalah sebagai berikut:

Regnum	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: <i>Myrmecodia</i>
Spesies	: <i>Myrmecodia pendens</i>

Secara morfologi dapat dijelaskan bahwa umbi pada tumbuhan sarang semut umumnya berbentuk bulat saat muda, kemudian menjadi lonjong memendek atau memanjang setelah tua. Umbinya hampir selalu berduri. Umbinya memiliki suatu system jaringan lubang-lubang yang bentuk serta interkoneksi dari lubang-lubang tersebut sangat khas sehingga digunakan untuk mengembangkan system klasifikasi dari genus ini. Untuk batang, tumbuhan sarang semut biasanya memiliki satu atau beberapa cabang. Batangnya jarang ada yang bercabang. Bahkan pada beberapa spesies tidak bercabang sama sekali. Batangnya tebal dan internodalnya sangat dekat, kecuali pada pangkal sarang

semut dari beberapa spesies. Pada daun sarang semut tebal seperti kulit. Beberapa spesies memiliki daun yang sempit dan panjang. *Stipula* (penumpu) besar, persisten, terbelah, dan berlawanan dengan tangkai daun (petiol), serta membentuk “telinga” pada klipeoli. Kadang-kadang terus berkembang menjadi sayap di sekitar bagian atas klipeolus. Sedangkan pada pembungaan mulai sejak beberapa ruas (internodal) terbentuk dan ada pada tiap nodus (buku). Dua bagaian pada setiap bunga berkembang pada suatu kantong udara (alveolus) yang berbeda. Alveoli tersebut mungkin ukurannya tidak sama dan terletak pada tempat yang berbeda di batang. Kuntum bunga muncul pada dasar alveoli. Setiap bunga berlawanan oleh suatu brakteola. Bunga jarang *kleistogamus* (menyerbuk tidak terbuka) dan kadang-kadang *heterostilus*. Kelopak biasanya terpotong. Polen adalah 1-, 2-, 3-, porat (kolporat) dan sering 1, 2, 3 visikel sitoplasma yang besar. Buah berkembang dalam alveolus dan memanjat pada dasarnya menjadi menonjol keluar hanya setelah masak (Subroto & Saputro, 2006).

Secara ekologi, tanaman sarang semut tersebar dari hutan bakau dan pohon-pohon di pinggir pantai hingga ketinggian 2400 m. Sarang semut paling banyak ditemukan di padang rumput dan jarang ditemukan di hutan tropis dataran rendah, namun lebih banyak ditemukan di hutan dan daerah pertanian terbuka dengan ketinggian sekitar 600 m. Tanaman ini banyak ditemukan menempel pada beberapa pohon, umumnya di pohon kayu putih, cemara gunung, kaha, dan pohon beech, tetapi jarang pada pohon-pohon dengan batang halus dan

rapuh seperti Eucalyptus. Sarang semut juga tumbuh pada dataran tanpa pohon dengan nutrisi rendah dan di atas ketinggian pohon.

Tumbuhan ini dinamakan Sarang Semut karena, pada habitat liarnya, tanaman ini dihuni oleh beragam jenis semut; namun satu tumbuhan hanya dihuni oleh 1 jenis semut. Secara umum ada tiga spesies semut dari genus *Iridomyrmex* yang biasa menghuni tanaman sarang semut; untuk spesies *Myrmecodia pendens*, koloni semut yang tinggal di dalam hipokotilnya adalah jenis *Ochetellus sp.* Keunikan tanaman sarang semut terletak pada interaksi semut yang bersarang pada umbi yang terdapat lorong-lorong di dalamnya. Kestabilan suhu di dalamnya membuat koloni semut betah berlama-lama bersarang di dalam tanaman ini. Dalam jangka waktu yang lama terjadilah reaksi kimia secara alami antara senyawa yang di keluarkan semut dengan zat yang terkandung di dalam buah sarang semut. Akar tanaman sarang semut tidak berfungsi sebagai penyerap unsur hara, hanya sebagai pengikat terhadap pohon inangnya. (Subroto, 2006).

Myrmecodia menyediakan lorong-lorong labirin dalam umbinya untuk sarang semut dan senyawa aktif yang menjadi sarang semut. Sedangkan tanaman ini membutuhkan koloni semut untuk perkembangannya. Tidak seperti tanaman lain yang mencari makanan dengan akarnya. Karena sarang semut sebagai tanaman epifit yang memfungsikan akarnya untuk berpegangan pada tanaman

lain. Makanan didapat dari sampah organik dari koloni semut. Sarang semut juga menyerap karbon dioksida yang dihasilkan semut (Alam, 2006).

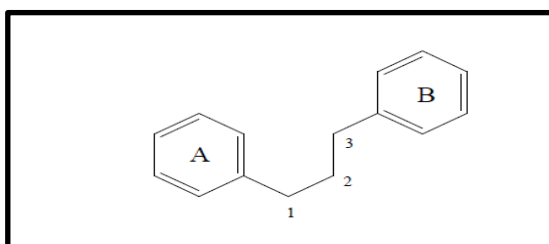


Gambar 2.1 Bagian Umbi Sarang Semut yang berongga (Subroto, 2006)

Secara empiris sarang semut banyak dimanfaatkan untuk pengobatan penyakit tumor atau kanker, bronkitis, diabetes mellitus, hipertensi, jantung koroner dan stroke. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Dr. Ir. M. Ahkam Subroto M.App.Sc., seorang peneliti yang setia meneliti tumbuhan sarang semut untuk kesehatan manusia, tumbuhan ini memiliki kandungan senyawa 14 kimia dari golongan flavonoid dan tanin. Banyak peneliti lain juga telah mendapati adanya kandungan kimia tersebut. Zat-zat tersebut dibutuhkan tanaman ini untuk menjadi bagian dari sistem pertahanan dirinya terhadap serangan dari luar (Healt today, 2006).

Kandungan kimia tanaman sarang semut didapatkan saat uji penapisan kimia dari tumbuhan sarang semut menunjukkan bahwa tumbuhan ini mengandung senyawa-senyawa kimia dari golongan flavonoid, tanin, tokoferol dan multi mineral (Ca, Na, K, P, Zn, Fe, Mg dan Polisakarida) (Healt today, 2006). Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang merupakan metabolit sekunder pada tanaman yang berfungsi untuk mendukung pertumbuhan tanaman (Gould, 2006).

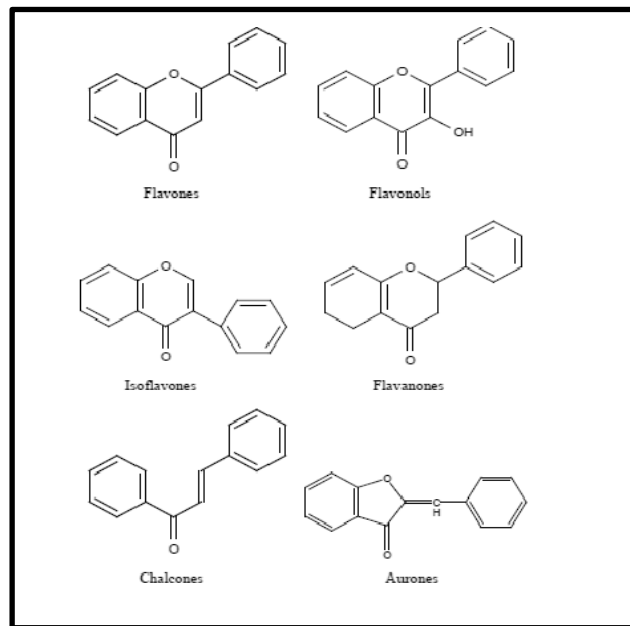
Saat ini lebih dari 6.000 senyawa yang berbeda masuk ke dalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan bagian penting dari diet manusia karena banyak manfaatnya bagi kesehatan. Flavonoid telah lama dikenal untuk memiliki antiradang, antioksidan, antialergi, hepatoprotektif antitrombotik, antivirus, dan anti kanker. Flavonoid juga bertindak sebagai chelator logam dan pengikat radikal bebas, juga sebagai antioksidan kuat (Middletton, 2000), terlibat dalam kegiatan estrogenik, inhibisi enzim, aktivitas antimikroba, aktivitas antialergi, aktivitas antioksidan dan aktivitas antitumor sitotoksik (Tim Cushnie, 2005) sehingga flavonoid dikenal sebagai nutraseutikal (Tapas, 2008).



Gambar 2.2 Struktur Umum Flavonoid (Achmad, 1986).

Aglikon flavonoid yang dalam satu tumbuhan ditemukan dalam bentuk kombinasi glikosida (Harbone, 1987). Aglikon flavonoid (yaitu flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur (Markham, 1988). Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃- C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena) 6 disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Kelas-kelas yang berlainan dalam golongan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan (Robinson, 1991).

Penggolongan flavonoid berdasarkan penambahan rantai oksigen dan perbedaan distribusi dari gugus hidroksil ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Jenis-Jenis Flavonoid (Mabry, *et al*, 1970).

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik bagi secara enzim maupun non enzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida sehingga melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Aktivitas antioksidannya dapat menjelaskan bahwa flavonoid tertentu merupakan komponen aktif tumbuhan yang digunakan secara tradisional untuk mengobati gangguan fungsi hati (Robinson, 1995).

Tanin merupakan astrigen yang mengikat dan mengendapkan protein berlebih dalam tubuh. Dalam bidang pengobatan, tanin digunakan untuk mengobati diare, hemostatik (menghentikan pendarahan) dan wasir. Tanin juga mempunyai kemampuan untuk menekan atau mengontrol parasit internal pada saluran pencernaan (Min *et al.*, 2003).

Disamping itu tanin mempunyai efek antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan patogen mastitis yaitu *Echerichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus aureus* (Min *et al.*, 2008).

Polifenol banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran serta biji-bijian. Senyawa tersebut diketahui menguntungkan untuk kesehatan. Hal tersebut disebabkan aktivitas polifenol sebagai antioksidan dan mampu melawan radikal bebas. Khasiat dari polifenol adalah antimikroba dan menurunkan kadar gula darah. Asam fenolik merupakan kelas dari antioksidan atau senyawa yang menghilangkan radikal bebas, yang dapat menyumbat pembuluh darah dan

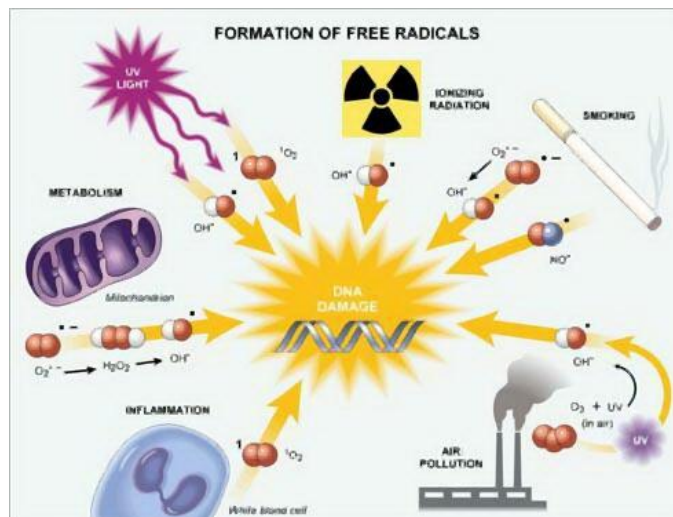
mengakibatkan perubahan pada DNA yang dapat menimbulkan kanker dan penyakit lain (Anonim, 2012). Polifenol juga memiliki aktivitas mikrobisida dan mikrobiostatik tergantung pada tipe strain (Karou, 2005).

Tokoferol substansi aktif secara fisiologis dengan vitamin E berpotensi sebagai antioksidan yang diaplikasikan secara luas dalam makanan, industri kosmetik dan farmasi. Tokoferol juga penting dalam pengawetan makanan dan pencegahan penyakit yaitu menghambat peroksidasi acylglycerol, menekan produksi kolesterol di hati, memberikan perlindungan terhadap beberapa jenis kanker, meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mengurangi penuaan selular. Pitosterol memiliki hipokolesterolemik dan antikarsinogen (Ito *et al.*, 2005).

Penelitian menunjukkan bahwa alfa-tokoferol pada konsentrasi 12 ppm telah mampu meredam radikal bebas hingga 96%. Sedangkan tanaman sarang semut kaya 16 akan antioksidan tokoferol, sampai sekitar 313 ppm. Maka tidak heran herbal ini dikenal memiliki reaksi yang cepat dalam membantu mengobati kanker, tumor, dan berbagai bentuk benjolan yang bisa menjadi tumor atau kanker (Anonim 2012).

C. Tinjauan Umum Antioksidan

Istilah antioksidan sangat dikenal dalam bidang kesehatan dan sehubungan dengan itu dikenal pula istilah radikal bebas. Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sangat labil dan akan “mengambil” elektron dari zat atau senyawa yang berada di dekatnya. Pengambilan elektron tersebut akan mengakibatkan zat atau senyawa lain tersebut kekurangan elektron, sehingga zat atau senyawa lain tersebut menjadi radikal (Muchtadi, 2013).



Gambar 2.4 Proses terjadinya radikal bebas dalam tubuh Manusia (Lampe, 1999).

Kerusakan jaringan oleh radikal bebas merupakan pemicu terjadinya berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskular, gangguan penglihatan termasuk katarak, penyakit saluran pernapasan dan lain-lain (Silalahi, 2006).

Radikal bebas adalah sebuah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital kulit terluarnya dan terbentuk

melalui dua cara yaitu : (1) secara endogen, sebagai respon normal dari peristiwa biokimia dalam tubuh, (2) secara eksogen, radikal bebas didapat dari polusi yang berasal dari luar tubuh dan bereaksi di dalam tubuh melalui pernafasan, pencernaan, injeksi dan penyerapan kulit (Supari, 1995). Menurut Halliwell dan Gutteridge (1989), radikal bebas adalah molekul atau senyawa yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dan dapat menimbulkan kerusakan pada biomolekul. Sifat radikal bebas yang sangat labil dan elektron yang tidak berpasangan dapat dianggap sebagai perebut elektron dari molekul lain yang terdapat di sekitarnya maupun yang berjarak jauh untuk memenuhi keganjilan elektronnya. Radikal bebas ini dapat berbentuk anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH), radikal nitrit oksida (NO), radikal lipid peroksida (LOO) (Bast., 1991).

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme oksidatif yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi dalam tubuh (Goldberg, 2003). Jenis antioksidan sangat beragam. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi antioksidan primer (*chain breaking antioxidant*) dan antioksidan sekunder (*preventive antioxidant*). Antioksidan primer dapat bereaksi dengan radikallipid dan mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil. Sebuah senyawa dapat disebut sebagai antioksidan primer apabila senyawa tersebut

dapat mendonorkan atom hidrogennya dengan cepat ke radikal lipid dan radikal antioksidan yang dihasilkan lebih stabil dari radikal lipid atau dapat diubah menjadi produk lain yang lebih stabil (Gordon, 1990). Senyawa yang termasuk dalam kelompok antioksidan primer (*chain breaking antioxidant*) adalah vitamin E (tokoferol), vitamin C (asam askorbat), β -karoten, glutathione, dan sistein (Taher, 2003). Antioksidan sekunder berfungsi sebagai antioksidan pencegah yaitu menurunkan kecepatan inisiasi dengan berbagai mekanisme, seperti melalui pengikatan ion-ion logam, penangkapan oksigen dan penguraian hidroperoksida menjadi produk-produk non radikal (Gordon, 1990). Pada dasarnya tujuan antioksidan sekunder (*preventive antioxidant*) adalah mencegah terjadinya radikal yang paling berbahaya yaitu radikal hidroksil (Taher, 2003). Contoh antioksidan sekunder antara lain turunan-turunan asam fosfat, asam askorbat, senyawa karoten, sterol dan fosfolipid (Gordon, 1990).

Menurut Karyadi (1997), berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Antioksidan sintetik yang umumnya digunakan dalam produk pangan antara lain BHA (*butylate hidroxyanisole*), BHT 10 (*butylated hydroxytoluena*), PG (*propil galat*), dan TBHQ (*tertbutylhydroxyquinone*). Antioksidan alami banyak terdapat dalam tanaman

pada seluruh bagian dari tanaman seperti akar, daun, bunga, biji, batang, dan sebagainya. Menurut Pratt dan Hudson (1990), senyawa-senyawa yang umumnya terkandung dalam antioksidan alami adalah fenol, polifenol, dan yang paling umum adalah flavonoid (flavonol, isoflavon, flavon, katekin, flavonon), turunan asam sinamat, tokoferol, dan asam organik polifungsi. Asam askorbat merupakan antioksidan alami yang terdapat dalam berbagai jenis buah-buahan dan sayuran. Antioksidan ini larut dalam air dan menjadi pertahanan pertama ROS dalam plasma. Senyawa ini secara aktif menangkap O_2 , OH, peroksil radikal, singlet oksigen dan berperan dalam regenerasi vitamin E. Vitamin C dapat melindungi biomembran dari kerusakan peroksidasi dan merupakan substrat bagi askorbat peroksidase yang merupakan enzim penting dalam menghilangkan H_2O_2 dalam kloroplas (Nabet, 1996).

Menurut Aipokpodion & Dongo (2010), fermentasi juga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan. Selama fermentasi katekin dan epikatekin akan menurun disebabkan karena adanya difusi polifenol dan oksidasi. Selain itu berbagai macam perlakuan sebelum fermentasi seperti pasteurisasi akan menyebabkan polifenol menurun. Selain faktor suhu dan fermentasi, aktivitas antioksidan juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain komposisi lemak, konsentrasi antioksidan, keberadaan antioksidan lainnya dan komponen bahan makanan lainnya. Aktivitas antioksidan dapat hilang misal oleh enzim

(polifenoloksidase dan yang lainnya) atau terlarut ke dalam air yang digunakan untuk memasak (Pokorny *et al.*, 2001).

Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron, sedangkan dalam pengertian biologis antioksidan molekul atau senyawa yang dapat meredam aktivitas radikal bebas dengan mencegah oksidasi sel (yahrizal, 2008). Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dibedakan menjadi tiga kelompok, yaitu:

1. Antioksidan primer

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak merugikan. Contohnya adalah Butil Hidroksi Toluen (BHT), *Tersier Butyl Hidro quinon* (TBHQ), propil galat, tokoferol alami maupun sintetik dan alkil galat.

2. Antioksidan skunder

Antioksidan skunder adalah suatu senyawa yang dapat mencegah kerja prooksidan yaitu faktor-faktor yang mempercepat terjadinya reaksi oksidasi terutama logam-logam seperti: Fe, Cu, Pb dan Mn. Antioksidan skunder berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contohnya adalah vitamin E, C dan beta karoten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

3. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker (Kumalaningsih, 2008).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan sintetik dan alami (Isnandar, 2011: 158):

1.) Antioksidan alami

Antioksidan alami merupakan jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksi dalam struktur molekulnya. Antioksidan yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kuramin, tokoferol dan asam organik polifungsional. Senyawa fenolik terbesar dibagian seluruh tumbuhan baik pada kayu, daun, akar, bunga maupun serbuk sari. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan belakangan ini banyak diteliti, karena flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Zuhra, 2008). Senyawa kimia yang tergolong antioksidan dapat ditemukan

secara alami diantaranya adalah asam ellagic, prontosianidin, polifenol, karotenoid, astaxhantin, tokoferol dan glutathione.

a. Asam ellagic

Senyawa ini bersifat anti-mutagenik dan banyak ditemukan dalam raspberry merah, stroberi, blueberry, delima dan kenari.

b. Prontosianidin

Antioksidan ini termasuk keluarga flavonoid dan merupakan senyawa yang memberikan warna merah dan biru pada buah, prontosianidin telah terbukti bermanfaat dan memperkuat kapiler, memperbaiki penglihatan dalam gelap, mendukung integritas dinding pembuluh darah dan mencegah pembekuan darah. Prontosianidin dapat ditemukan pada kismis, biji anggur, kulit buah anggur, teh hijau, teh hitam, kulit kayu manis dan kakao.

c. Polifenol

Mikronutrien ini mewakili kelompok besar antioksidan yang termasuk flavonoid dan antosianidin, menurut sebuah penelitian di *American Journal of Clinical Nutrition*, senyawa ini telah mencegah kondisi degeneratif, termasuk kanker dan penyakit kardiovaskuler dan neurodegeneratif, polifenol dapat ditemukan pada apel, bawang, brokoli, stroberi, kakao, teh dan sayuran hijau.

d. Karotenoid

Karotenoid adalah laruan dalam lemak yang dikenal dengan sebutan beta-karoten (yang dapat dikonversi menjadi vitamin A dalam tubuh), karotenoid dapat ditemukan pada spirulina, wortel, jeruk, lemon, labu, lobak dan tomat.

e. Astaxanthin

Astaxanthin tergolong karoten. Menurut para ahli, astaxanthin 1000 kali lebih kuat sebagai antioksidan daripada vitamin E. Udang, ikan salmon dan kerang merupakan sumber protein astaxanthin. Tetapi kandungan astaxanthin terbanyak ada pada jenis makroalga, yaitu *Haematococcus pluvialis* (Rohmatussolihat, 2009).

f. Tokoferol (Vitamin E)

Vitamin E dipercaya sebagai sumber antioksidan yang kerjanya mencegah lipid dari peroksidasi asam lemak tak jenuh dalam membran sel dan membantu oksidasi vitamin A serta mempertahankan kesuburan. Dalam *Journal National Cancer Institute* menemukan bahwa resiko kanker prostat turun secara signifikan dengan tingka tinggi tokoferol. Vitamin E dapat ditemukan pada kacang-kacangan, minyak sayur, minyak gandum dan minyak hijau.

g. *Glutation*

Glutation adalah molekul yang sangat kecil dan merupakan antioksidan yang paling penting karena berada dalam sel, molekul ini mampu menetralkan radikal bebas, meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan membantu hati mengeluarkan racun dari dalam tubuh. *Glutation* sering disebut sebagai “Master Antioksidan” karena berfungsi sebagai regulator dan regenerator dari kekebalan sel dan agen detoksifikasi yang paling berharga dalam tubuh manusia, rendahnya tingkat *glutation* dalam tubuh erat kaitannya dengan disfungsi hati, disfungsi kekebalan tubuh, penyakit jantung, penuaan dini dan kematian. *Glutation* dapat ditemukan pada susu kambing, alpukat, asparagus, peterseli dan brokoli (Mikail dan Anna, 2011).

2.) Antioksidan sintetik

Antioksidan sintetik yang diizinkan dan umum digunakan untuk makanan yaitu *Propil Galat* (PG), *Butylated Hydroxianisole* (BHA) dan *Butylated Hydroxituluene* (BHT). Pada saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena beberapa antioksidan terbukti bersifat karsinogenik dan beraun pada hewan percobaan (Zuhra, 2008). Telah dilaporkan bahwa penggunaan antioksidan *Butylated Hydroxianisole* (BHA) dan *Butylated Hydroxituluene* (BHT) dapat menimbulkan akibat buruk terhadap kesehatan manusia yaitu gangguan fungsi hati, paru,

mukosa usus dan keracunan. Penggunaan antioksidan sintetis dapat menyebabkan keracunan pada dosis tertentu, menurut rekomendasi *Food and Drug Administration* dosis antioksidan sintetis yang diizinkan dalam pangan adalah 0.01% - 0.1% (Panangan, 2011).

Beberapa metode pengukuran aktivitas antioksidan yang dapat digunakan antara lain metode DPPH dan metode uji aktivitas kemampuan mereduksi. Metode DPPH merupakan salah satu metode aktivitas antioksidan yang sederhana dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) sebagai senyawa pendeteksi (Miller *et al.*, 2000). DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) adalah senyawa radikal bebas yang stabil yang dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi (Simanjuntak *et al.*, 2004). Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 5. Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm (Kubo *et al.*, 2002). Penurunan absorbansi menunjukkan adanya aktivitas *scavenging* (aktivitas antioksidan). *Scavenging effect* merupakan efek peredaman terhadap radikalbebas. Pada metode ini senyawa antioksidan diuji aktivitasnya dalam meredam aktivitas DPPH.

Menurut Miller (2000), metode DPPH merupakan salah satu metode aktivitas antioksidan yang sederhana dengan menggunakan 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) sebagai senyawa pendeteksi. DPPH (1,1-diphenyl-2-

picrylhydrazil) adalah senyawa radikal bebas yang dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi (Simanjuntak,2002).

Pada metode DPPH *free radical scavenging activity*, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) digunakan sebagai model radikal bebas. Jika senyawa ini masuk ke dalam tubuh manusia dan tidak terkontrol dapat menyebabkan kerusakan fungsi sel. Dalam uji ini, metanol digunakan sebagai pelarut, antioksidan dalam rempah-rempah akan bereaksi dengan DPPH dan mengubahnya menjadi 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine. Perubahan serapan yang dihasilkan oleh reaksi ini menjadi ukuran kemampuan antioksidan dari bahan tersebut (Hatano, 1988).

Senyawa antioksidan akan melepaskan atom Hidrogen (H) yang mengandung satu proton dan satu elektron yang merupakan contoh sederhana dari radikal bebas, dan dalam hal ini berasal dari senyawa antioksidan. Terjadinya reaksi DPPH dengan atom H menyebabkan radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil) diubah menjadi 1,1-diphenyl-2-picrylhidrazine yang stabil. Sebaliknya, peredam radikal bebas atau antioksidan yang kehilangan H menjadi radikal baru yang lebih stabil dibandingkan radikal DPPH. Radikal antioksidan (R) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lain membentuk radikal baru. Radikal-

radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal. Suatu senyawa dapat digunakan sebagai peredam radikal bebas yang bermanfaat apabila setelah bereaksi dengan radikal bebas akan menghasilkan radikal baru yang stabil atau senyawa bukan radikal (Gordon, 1990).

D. Ayat dan Hadis yang Relevan

1. Ayat mengenai tumbuhan

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk hidup ciptaan Allah yang memiliki banyak sekali manfaat. Allah SWT telah menurunkan pelajaran melalui Nabi Muhammad SAW, sebagaimana dalam QS An-nahl/16: 11 yang berbunyi:

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ
كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Terjemahnya:

Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu dengan tanam-tanaman: zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan.

Ayat diatas menjelaskan bahwa hanya Allah-lah yang menumbuhkan tanam-tanaman, zaitun, korma, anggur, dan buah-buah lain dan air yag diturunkan dari langit. Proses pertumbuhan penyiraman dengan air hujan, kemudian tumbuh dan berbuahnya tanaman tersebut mngandung tanda-tanda yang jelas bagi orang-orang yang mau berfikir dan merenung supaya dia beriman (Ash-Shiddieqy, 2000).

Meskipun tanaman sarang semut tidak disebutkan dalam ayat di atas, tapi sudah sangat jelas bahwa tanaman sarang semut sama halnya dengan tanaman lainnya yang membutuhkan air hujan untuk tumbuh dan berkembang biak. Dari sinilah kita bisa melihat tanda-tanda kekuasaan Allah SWT, betapa berartinya air hujan yang Ia turunkan untuk kelangsungan hidup makhluk hidup di muka bumi ini.

2. Ayat mengenai Bakteri

Allah swt telah menurunkan pelajaran melalui Nabi Muhammad saw, sebagaimana dalam QS Ali-imran/3: 191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ
النَّارِ ﴿١٩١﴾

Terjemahnya:

(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “ Ya Tuhan Kami. Tiadalah engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah kami dari siksa neraka.”

Maksud dari ayat 191 diatas ialah bahwa mereka yang tak putus-putus berdzikir dalam segala keadaan baik berdzikir dengan hati maupun dengan lisan mereka. Mereka yang memahami apa yang terdapat pada keduanya yakni langit dan bumi dari kandungan hikmah yang menunjukkan keagungan “Al-Khalik” (Allah), kekuasaan-Nya, keluasaan ilmu-Nya, hikmah-Nya, pilihan-Nya serta rahmat-Nya (Abdullah, 2011: 268).

Sungguh Allah mencela orang yang tidak mengambil pelajaran tentang penciptaan Mahluk-Nya, yang mana hal itu menunjukkan kepada dzat-Nya, sifat-Nya, syariat-Nya dan tanda-tanda kekuasaan-Nya. (Abdullah, 2011: 269).

Allah tidak menciptakan semua yang ada dalam alam raya dengan sia-sia, tetapi dengan penuh kebenaran agar Dia memberi balasan kepada orang-orang yang beramal buruk terhadap apa yang mereka kerjakan dan juga memberi balasan orang-orang yang baik dengan balasan yang lebih baik yakni surga. Dengan mengerjakan amal saleh semoga Allah SWT senantiasa memberikan taufik kepada manusia dan dapat mengantarkan kami ke surga serta menyelamatkan kita dari azab-Nya yang sangat pedih (Abdullah, 2011: 269).

Tafsir diatas menjelaskan bahwa Allah swt menganugerahkan kepada manusia akal pikiran untuk memikirkan dan mencari tau tentang semesta raya. Allah SWT, menciptakan segala sesuatu dengan tujuan tertentu dan dalam hal ini menciptakan bakteri endofit tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) yang sangat bermanfaat pada tumbuhan maupun manusia.

3. Ayat mengenai Penyakit

Allah memberikan cobaan kepada umatnya yang berupa penyakit dan Allah pula yang menyembuhkan. Sebagaimana yang difirmankan oleh Allah dalam QS. Ash Shu'araa'/26: 79 dan 80 yang berbunyi:

وَالَّذِي هُوَ يُطْعِمُنِي وَيَسْقِينِ وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشفِي ۚ

Terjemahnya :

dan Tuhanku, Yang Dia memberi makan dan minum kepadaku, dan apabila aku sakit, Dialah Yang menyembuhkan aku”.

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah swt, menurunkan sebuah penyakit kepada mahluk-Nya, sekalipun itu merupakan qadha, qadhar dan ciptaan Allah tetapi Allah sandarkan hal itu kepada hamba-Nya sebagai sikap beradab. Hal ini berarti jika seseorang hamba menderita sakit, maka tidak ada seorang pun yang kuasa memberikannya kesembuhan selain dari Dia sesuai takdir-Nya yang dikarenakan oleh sebab yang menyampaikannya (Tafsir Ibnu Katsir, 2011: 510-511).

Tafsir diatas menjelaskan bahwa tiadalah Allah menurunkan atau menyandarkan sebuah penyakit kepada hamba-Nya melainkan dengan maksud tertentu. Dengan demikian hakikat kesembuhan berada ditangan Allah swt dengan segala bentuk adalah sebuah sebab (upaya) seseorang untuk mendapatkan kesembuhan dari-Nya (Tafsir Ibnu Katsir, 2011: 510-511).

Relevansi dari ketiga ayat diatas dapat ditinjau dari segi manfaatnya bagi kesehatan atau kelangsungan hidup manusia di muka bumi ini dan keselamatan di akhirat. Pada tafsir QS Asy'syuaraa ayat 79 dan 80 dijelaskan bahwa tak ada seorang pun yang mempunyai kuasa untuk menyembuhkan selain Allah SWT, tetapi bukan berarti kita hanya pasrah dengan keadaan atau penyakit yang diderita, tetapi hendaknya kita berusaha dengan cara berobat, menjaga kesehatan dan tentunya tetap bermunajat meminta pertolongan yang Maha Kuasa. Justru Allah SWT membenci sifat pasrah atau putus asa terhadap keadaan, yang semata-mata hanya berdoa tanpa ada usaha yang dilakukan. Salah satu usaha yang bisa dilakukan yaitu berobat, baik itu dengan penanganan paramedic maupun lewat pengobatan alternatif. Pengobatan alternatif itu sendiri biasanya menggunakan tanaman-tanaman obat yang telah dianggap mampu untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Contohnya tanaman sarang semut yang telah diketahui bisa menyembuhkan penyakit ringan maupun penyakit berat sekalipun.

Telah dijelaskan pula pada QS Ali-Imran ayat 191 bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini tidak ada yang sia-sia, bahkan itu makhluk terkecil pun yang tidak dapat dilihat dengan kasat mata, bakteri endofit salah satunya bakteri endofit yang ditemukan di berbagai tanaman, termasuk tanaman sarang semut ini ternyata memiliki senyawa Flavonoid yang mampu menangkal radikal bebas. Radikal bebas sendiri telah diketahui bisa merusak sistem organ pada tubuh manusia dan menyebabkan penyakit degeneratif seperti kanker. Oleh karena

itu, tidak salah jika dijelaskan bahwa tak ada sesuatu di muka bumi ini diciptakan dengan sia-sia dan terus berusaha serta berdoa meminta keridhoan dari Allah SWT.

4. Hadist mengenai penyakit

Kemudian dalam hadist yang diriwayatkan oleh Abu Daud, Thayalisi Ibnu Muni', Tabrani dan Dailami dari Isamah Bin Syarik at Taghlibi berkata:

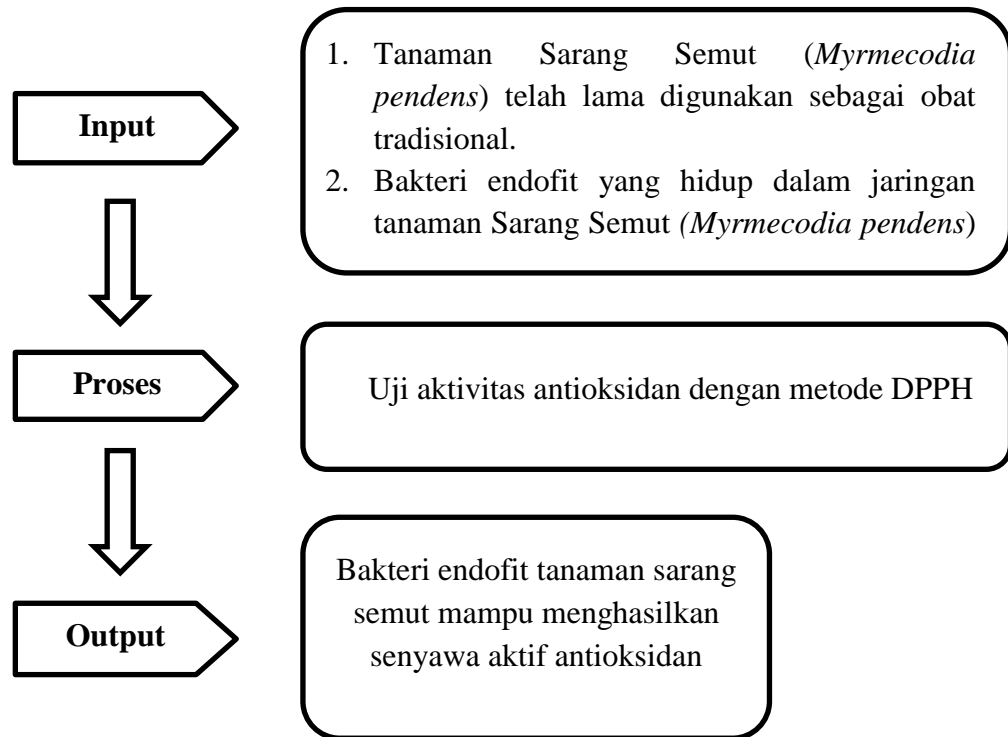
إِنَّ اللَّهَ لَهُ لَمْ يَنْزِلْ دَاءٌ إِلَّا نَزَلَ جَهْلُهُدَوَاءً، وَأَجْهَلُهُمَنْ عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ

Terjemahnya:

Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya bersamanya. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya.

Kata Isamah: “Aku telah mendatangi Rasulullah. Diatas kepala beliau seakan ada seekor burung. Maka berdatanglah orang-orang Arab menanyakan sesuatu: “Apakah kita akan mendapat malapetaka?”. Maka bersabdalah Rasulullah seperti hadist diatas. Hadist ini mengandung keterangan bahwa Allah akan menghilangkan kesempitan kecuali menyengsarakan orang lain. Diakhirat orang tersebut akan termasuk golongan orang-orang yang celaka (Hamzah, 2004: 443).

E. Kerangka Pikir



BAB III

METODE PENELITIAN

A. *Jenis dan Lokasi Penelitian*

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif dengan pendekatan deskriptif. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar.

B. *Pendekatan Penelitian*

Pendekatan penelitian yang digunakan yaitu penelitian kualitatif deskriptif dimana penelitian ini menggambarkan fenomena-fenomena yang ada, yang berlangsung saat ini atau fenomena lampau.

C. *Variabel Penelitian*

Variabel dalam penelitian ini adalah bakteri endofit tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) sebagai variabel tunggal yang menghasilkan senyawa antioksidan.

D. *Defenisi Operasional Variabel*

Bakteri tanaman sarang semut yang diuji antioksidannya menggunakan metode DPPH diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometer dan dilihat dari indikator atau perubahan warna yang terjadi.

E. Metode Pengumpulan Data

Pada penelitian ini, pengumpulan data dilakukan dengan melihat persentasi radikal bebas menggunakan rumus *scavenging effect*.

F. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini alat-alat gelas laboratorium, inkubator, *incubator shaker*, oven, laminar air flow, *water bath*, ose bulat, bunsen, atoklaf, lemari es, sentrifuge, pengaduk magnet, timbangan analitik, mikropipet dan tip, rotavapor, vortex mixer dan spektrofotometer UV-Vis Milton Roy 501.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 isolat bakteri yaitu *Bacillus pumilus*, *Bacillus sp (1)*, *Bacillus sp (2)*, *Nutrient Broth*, aluminium foil, beberapa bahan kimia yang digunakan adalah metanol, aquades, alkohol 70%, reagen 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH).

G. Prosedur Kerja

1. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara membungkus alat-alat dengan aluminium foil, kemudian memasukkannya ke dalam atoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit.

2. Persiapan Kultur Kerja

Setiap isolat bakteri endofit *Bacillus pumilus*, *Bacillus sp (1)* dan *Bacillus sp (2)* ditumbuhkan dalam 100 mL media NB kemudian di inkubasi pada suhu

37° C selama 3 hari dengan kecepatan 120 rpm. Selanjutnya kultur bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit kemudian supernatan difiltrasi menggunakan kertas saring 0,22 µm dan diatoklaf. Selanjutnya, metanol ditambahkan dalam saringan (2:1) dan dihomogenkan menggunakan stirrer selama 24 jam untuk menghasilkan ekstraksi. Ekstrak metanol kemudian difiltrasi dan dimasukkan dalam evaporator dengan suhu dibawah 45°C.

3. Pembuatan Larutan DPPH

Menimbang DPPH sebanyak 6,57 mg kemudian melarutkan dalam metanol p.a menggunakan labu terukur 50 mL. larutan dijaga pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya untuk segera digunakan.

4. Pengukuran Daya Antioksidan Ekstrak Metanol

Untuk ekstrak metanol, memipet larutan stok masing-masing 1 mL kemudian menambahkan larutan DPPH sebanyak 1 mL dan mencukupkan volumenya dengan metanol p.a sampai 5 mL. Campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37° C. Masing-masing larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm.

H. *Analisis Data*

Nilai konsentrasi penghambatan ditentukan dengan analisis statistik menggunakan regresi linear dari data % inhibisi dengan konsentrasi sampel.

Besarnya persentasi penghabatan radikal bebas dihitung dengan rumus:

$$\% \text{Penghambatan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

A_0 = Absorbansi kontrol (DPPH)

A_1 = Absorbansi ekstrak sampel

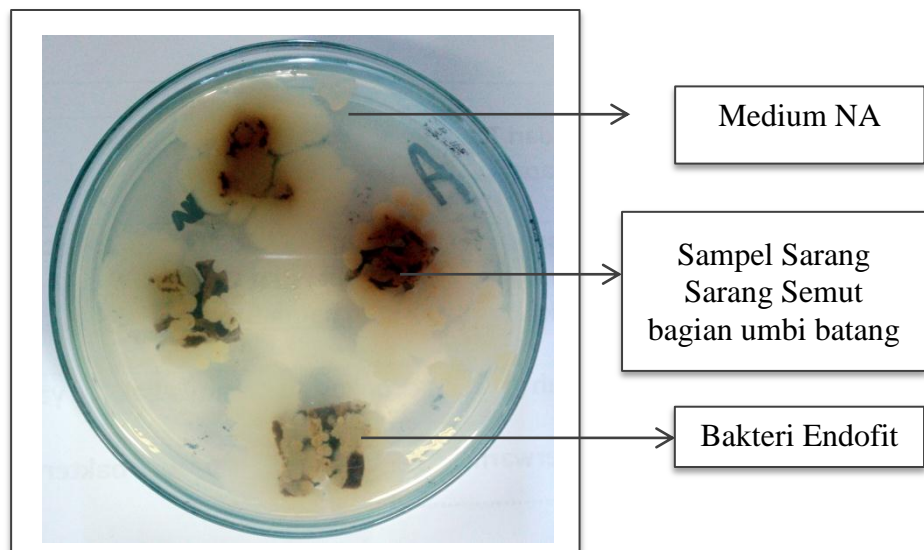
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Kultivasi Isolat Bakteri Endofit

Hasil isolasi dari sampel tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) memperlihatkan 3 isolat bakteri endofit yang telah ditumbuhkan masing-masing pada media NA (*Nutrient Agar*).



Gambar 4.1 Hasil Isolasi Bakteri Endofit Tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*)

Kemudian setiap isolat ditumbuhkan dalam 100 mL media NB (*Nutrient Broth*) dan diinkubasi menggunakan *Inkubator shaker* pada suhu 37°C dengan kecepatan 120 rpm. Selanjutnya kultur bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm untuk mendapatkan supernatant selama 15 menit.

Supernatan yang diperoleh kemudian difiltrasi menggunakan kertas saring 0.22 μm dan hasil saringan dimasukkan ke dalam atoklaf. Selanjutnya methanol p.a ditambahkan dalam saringan (2:1) dan menghomogenkan menggunakan stirrer selama 24 jam untuk menghasilkan ekstraksi. Ekstrak methanol tersebut kemudian dimasukkan ke dalam evaporator dengan suhu 45°C

2. Uji Antioksidan dengan Menggunakan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara mencampurkan ekstrak methanol, reagen DPPH dan methanol p.a kemudian menghomogenkan dengan menggunakan vortex mixer lalu menginkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Kemudian, mengukur serapannya menggunakan spektrofotometer dan setelah itu diamati nilai *scavenging effect* yang memiliki rumus $(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}) \times 100 / A_{\text{kontrol}}$, pada tabel di bawah ini:

Tabel 4.1 % *Scavenging Effect* yang diperoleh pada isolat

No	Sampel	% <i>Scavenging Effect</i>
1.	Blanko (Methanol p.a)	1,000
2.	DPPH	1,000
3.	<i>Bacillus</i> sp (1)	0,15%
4.	<i>Bacillus</i> sp (2)	0,31%
5.	<i>Bacillus pumilus</i>	0,37%

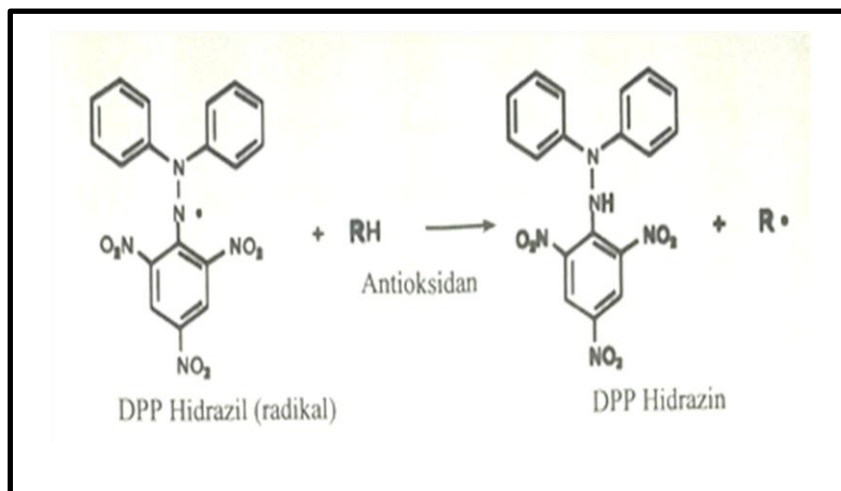
Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa bakteri endofit sarang semut (*Myrmecodia pendens*) yang menghasilkan suatu metabolit sekunder yang sama dengan inangnya yang dalam habitat aslinya dapat membentuk koloni dalam jaringan tanaman. Hal ini, diduga karena adanya transfer genetik (*genetic recombination*) dalam kurun waktu evolusi tertentu dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit (Zou, 2001). Bakteri *Bacillus pumilus* endofit tersebut memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa antioksidan 0,37%, sedangkan untuk bakteri *Bacillus* sp (1) dan *Bacillus* sp (2) % *Scavenging effect* nya yaitu masing-masing 0,15% dan 0,31%.

B. Pembahasan

Mikroba endofit pada tanaman sarang semut menunjukkan keragaman jenis. Pada bagian tanaman yang berbeda ditemukan jenis yang berbeda. Lebih spesifik pada bagian batang memiliki keanekaragaman mikroba yang lebih kompleks dibandingkan bagian akar dan daun. Hal ini kemungkinan didukung oleh karena batang lebih menyediakan suplai nutrisi untuk kebutuhan pertumbuhan mikroba. Bila ditinjau dari morfologi tanaman, bagian batang tanaman merupakan tempat penimbunan hasil aktivitas metabolisme tanaman.

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal 2,2-difenil-1-phikrihidrazil (DPPH) karena merupakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Metode DPPH

pertama kali diperkenalkan oleh Marsden Blois di Universitas Stanford. DPPH merupakan radikal sintetik yang larut dalam pelarut polar seperti methanol, berwarna ungu gelap dan mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorbansi kuat pada panjang gelombang 517 nm. DPPH mampu menerima sebuah elektron atau radikal hidrogen untuk menjadi molekul diamagnetik yang stabil. DPPH pada uji ditangkap oleh antioksidan yang melepaskan hidrogen sehingga membentuk DPPH-H tereduksi. Warna berubah dari ungu gelap menjadi memudar dan diikuti penurunan serapan pada panjang gelombang 517 nm didaerah UV-VIS adanya penurunan serapan tersebut maka aktivitas penangkap radikal bebas dapat diketahui.



Gambar 4.2 Radikal DPPH dengan antioksidan (Lampe, 1999).

Radikal bebas DPPH dapat menangkap atom hidrogen dari komponen aktif ekstrak yang dicampur kemudian bereaksi menjadi bentuk tereduksinya yaitu terlihat pada gambar di atas.

Menurut penelitian Fenella (2014) dalam jurnalnya *Indian journal of Biotechnology* dengan judul aktivitas antioksidan dari bakteri endofit L-Asparaginase yang berasosiasi dengan tumbuhan obat dengan menggunakan metode DPPH, salah satu tanaman obat yang digunakan oleh Fenella yaitu *Rubia cordifolia* yang memiliki ordo dan famili yang sama dengan tanaman sarang semut yaitu ordo Rubiales dan famili Rubiaceae, hasilnya menunjukkan bahwa persen penghambatannya adalah 0.062%. Selain itu, dalam jurnalnya mengemukakan bahwa semakin rendah nilai penghambatannya maka semakin baik kandungan antioksidannya. Pada hasil penelitian juga telah terbukti nilai hasil absorbansinya yaitu masing-masing 0.58, 0.6825 dan 0.6285 dan setelah itu dimasukkan ke dalam rumus nilai %*scavenging effect* sehingga didapatkan hasil penghambatan yaitu *Bacillus pumilus* 0.37%, *Bacillus* sp (1) 0,15% dan *Bacillus* sp (2) 0.31%.

Semakin rendah nilai penghambatannya maka semakin baik kemampuannya untuk menangkal radikal bebas atau menghasilkan antioksidan, karena tanaman sarang semut ini telah diketahui kandungannya mengandung Falvonoid, dimana senyawa ini merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang banyak merupakan pigmen tumbuhan. Fungsi kebanyakan flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan, antioksidan juga berfungsi untuk melindungi jaringan terhadap kerusakan oksidatif akibat radikal bebas yang berasal dari proses-proses dalam

tubuh atau dari luar mengandung senyawa yang berwarna merah kuning atau jingga.

Senyawa aktif dalam ekstrak yang memiliki kemampuan penangkap radikal umumnya merupakan pendonor atom hidrogen (H), sehingga atom H tersebut ditangkap oleh radikal DPPH (hidrazil) untuk berubah menjadi bentuk netralnya (hidrazin). Radikal bebas DPPH bersifat peka terhadap cahaya, oksigen dan pH, tetapi bersifat stabil dalam bentuk radikal sehingga memungkinkan untuk dilakukan pengukuran antioksidan.

Blanko adalah larutan yang mendapatkan perlakuan yang sama dengan sampel dan pembanding dan tidak mengandung analat. Tujuan pengukuran absorbansi blanko adalah mengetahui besarnya serapan oleh zat bukan analat. Dari hasil pengukuran blanko diperoleh absorpsi sebesar 1.000.

Pengujian aktivitas penangkapan radikal bebas ekstrak bakteri endofit tanaman sarang semut dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Pertimbangan dari metode tersebut karena metode DPPH merupakan metode yang relatif mudah dan sederhana dalam pengerjaannya. Kemampuan larutan ekstrak bakteri endofit tanaman sarang semut dalam menangkap radikal bebas DPPH dapat dilihat dari berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH setelah ditambahkan sampel.

Pengurangan intensitas warna tersebut disebabkan oleh bereaksinya molekul radikal DPPH dengan satu atom hidrogen yang dilepaskan oleh

sampel sehingga terbentuknya senyawa DPPH yang berwarna kuning stabil. Senyawa fenol yang terdapat dalam sampel kehilangan atom H yang akan menjadi radikal bebas baru yang stabil dan tidak reaktif karena adanya efek resonansi inti aromatik.

Pengukuran aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan metode spektrofotometri visibel. Pengukuran aktivitas antioksidan ditandai dengan adanya penurunan absorbansi larutan DPPH yang telah ditambahkan sampel. Absorbansi yang terukur adalah absorbansi sisa DPPH yang tidak ditangkap oleh senyawa flavonoid dalam sampel. Semakin kecil absorbansi larutan uji, maka aktivitas penangkapan radikal bebas semakin besar.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa kemampuan antioksidan suatu zat dipengaruhi oleh banyaknya zat tersebut menangkap elektron yang ditandai oleh besar kecilnya nilai absorbansi, semakin besar nilai absorbansinya maka semakin kecil elektron yang ditangkap dan semakin kecil nilai absorbansinya maka semakin besar elektron yang ditangkap, dari hasil penelitian yang dilakukan bakteri *Bacillus* sp (1) dan (2) serta *Bacillus pumilus* tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) mampu menghasilkan senyawa antioksidan dengan nilai persen penghambatan 0,31%, 0,15% dan 0,37%.

B. Saran

Adapun saran dalam penelitian yaitu perlunya dilakukan penelitian untuk mengetahui lebih lanjut aktivitas antioksidan bakteri endofit pada tanaman sarang semut.

KEPUSTAKAAN

- Abdullah bin Muhammad Alu Syaikh. 2011. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 2*. Jakarta: Pustaka Imam Syafi'I.
- Abdullah bin Muhammad Alu Syaikh. 2011. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 6*. Jakarta: Pustaka Imam Syafi'I.
- Abu Bakar. 1992. *Tafsir Al-Maragi*. Semarang: CV. Toha Putra Semarang.
- Achmad A, Sjamsul. 1986. Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Universitas Terbuka.
- Alam Syamsir, Srikandi Waluyo dalam Nirmala. Sarang Semut dan Penyakit Maut. Riset Tumbuhan Ilmiah Sarang semut. Papua, 2016.
- Barac, T., Taghavi, S., Borremans, B., Provoost, A., Oeyen, L., Colpaert, J. V., Van gronsveld, J., and van der Lelie, D. 2004. *Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants*. Nat. Biotechnol. 22:583-588.
- Castillo et al. 2002. Munumbicins, *widespectrum antibiotics produce by Streptomyces* NRRL 30562, endophytic on *Kennedia nigrisca*. Microbiology 148: 2675-2685
- Chen HM, Koji M, Fumio Y, Kiyoshi N. "Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein". J. Agric. Food Chem 44: 2619-23 (1996).
- Clay, K. 1988. *Fungal endophytes of grasses, and a defensive mutualism between plants and fungi*. Ecology 69:10-16.
- Dubois, T., Coyne, D., Kahangi, E., Turoop, L., Nsubuga, E.W.N. 2006. *Endophyte-Enhanced Banana Tissue Culture: Technology Transfer Through Public-Private Partnerships in Kenya and Uganda* in ATDF.
- Fadhilah. 2012. *Aktivitas dan Karakter Senyawa Inhibitor ACE Streptomyces sp AEP-1 Endofit Tanaman Pegangan (Centella asiatica)*. Tesis Institut Bogor.
- Fenella M War Nongkhlaw and S R Joshi. 2015. Microbiology Laboratory. *L-Asparaginase and antioxidant activity of endophytic bacteria associated with ethnomedicinal plants*. Department of Biotechnology and Bioinformatics, North-Eastern Hill University Shillong 793022, India.
- Firmansah, R. 2008. *Effectiveness of Endophyte and Phylloplen Bacteria Of Mucuna pruriens Linn Leaves in Promoting Plant Growth and Suppressing Leaf Spot Disease (Cercospora sp.) on Peanut (Arachis hypogaea L.)*. <http://www.docstoc.com/docs/2324531>.

- Goldberg, G. 2003. *Plants : Diet and Health*. I Owa State Press, Blackwell Publishing Company, 2121 State Avenue, USA.
- Gordon, M.H 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action in vitro*. Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. Elsivier Applied Science, London.
- Gould K.S and C.Lister. 2006. *Flavonoid functions in plants*. Dalam Anderson Q.M and K.R Markham. 2006. *Flavonoids : chemistry, Biochemistry and applications*. CRC Press. New York. Pp. 397
- Health To Day. 2006. *Sarang semut dipercaya sebagai obat tradisional anti kanker*. http://sarangsemut.co.id/Health_Today_September_2006__Sarang_Semut.pdf
- Huxley, C.R.1993. *The tuberosus epiphytes of the rubiaceae* 6:A taxonomic history of the hydnohytinae. *Blumea* 37: 335-340.
- Ito V.M, P.F Martins C.B Batistella and M.R Wolf Maciel. 2005. *Tocopherols and Phytosterols concentration from soybean aol deodorizer distillate*. http://www.enpromer2005.eq.ufrj.br/nukleo/pdfs/0673_trabalho673_revisado.pdf. Journal Vol 3 Issue 1 TOT.
- Karou D, M.H Dicko, J. Simpoire and A.S Traore. 2005. *Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols fom ethnomedicinal plants of Burkina Faso*. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 4(8). Pp. 823-828.
- Karyadi, E. 1997. *Antioksidan, Resep Sehat dan Umur Panjang*. <http://www.indomedia.com/intisari/1997/Juni/antioks.htm>.
- Kaga, H., Mano, H., Tanaka, F., Watanabe, A., Kaneko, S dan Morisaki, H. 2009. *Rice Seeds as Sources of Endophytic Bacteria*. *Microbes Environ*. Vol. 24,No. 2, 154–162. <http://www.soc.nii.ac.jp/jsme2/>.
- Lampe. *Health Effect Of Vegetables and Fruit Assesing Mechanism of Action In Human Experimentl Studies*. *The American Journal of Clinic Nutrition*. Vol.70: 475-490, 1999.
- Markham, K.R. 1988. *Techniques of Flavonoid Identification*. London: Academic Pr.
- Middleton E, C. Kandaswami and T.C Theoharides. 2000. *The effect of plant flavonoids on mammalian cells : implications for inflammations, heart disease and cancer*. *Pharmacological Review*. Vol. 52(4) pp. 673 –751.
- Miller, H. E., F. Rigelhof, L. Marquart, A. Prakash, M. Kanter. 2000. *Antioxidant Content of Whole Grain Breakfast Cereal, Fruits and Vegetables*. *Journal of The American Collage of Nutrition*. Vol. 19. No. 3. 3125-3195.
- Min B.R and S.P Hart. 2003. *Tannis for suppression of internal parasites*. *Journal Animal Sciences*. 81(E.suppl.2):E102 – E109.

- Nabet, F. B. 1996. *Zat Gizi Antioksidan Penangkal Senyawa Radikal Pangan dalam Sistem Biologis*. Kerjasama Pusat Studi Pangan dan Gizi dan Kedutaan Besar Prancis, Jakarta.
- Pratt, D.E. and B.J.F. Hudson. 1992. *Natural Antioxidant Not Exploited Commercially*. Ln B J F Hudson (Ed.). food Antioxidant. Elsevier Applied Science, London and New York. 182-189 pp.
- Rodewald, M., T, F., Scherwinski, K., Fekete, A., Schmidt, S., Eberl, L., Schmid, J. C. S., Hartmann, A., Kopplin, P. S., Trognitz B. dan Sessitsch, A. 2009. *Interaction between potato and the endophyte Burkholderia phytofirmans*. IISBN:: 978--3--902559--28—9.
- Rohmatussolihat. 2009. *Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia*. LIPI: Biotrends.
- Rosenblueth, M dan Martínez-Romero, E. 2008. *The American Phytopathological Society*. MPMI Vol. 19, No. 8:827–837.
- Silalahi J. 2002. *Senyawa polifenol sebagai komponen aktif yang berkhasiat dalam teh*. Majalah Kedokteran Indonesia. 52 (10) : 361-4.
- Simarmata R, Lekatompessy S, Sukiman H. 2007. *Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (Gymura procumbens) dan analisis potensinya sebagai antimikroba*. Berk Penel Hayati 13 : 85-90.
- Simanjuntak, P., P. Titi., Bustanussalam., P. Titik., W. Sumedi. & S. Hirotaka. 2002. *Isolasi dan Kultivasi Mikroba Endofit Penghasil Senyawa Alkaloid Kinkona dari Cinchona spp*. Mikrobiologi Indonesia. 7 (2): 27-30.
- Strobel, G. A. & B. Daisy, 2003. *Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products*. Microbiology and Molecular Biology. 419-502.
- Sturz, A. V., and Nowak, J. 2000. *Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops*. Appl. Soil Ecol. 15:183-190.
- Subroto MA., Saputro H., 2006. *Gempur Penyakit dengan Sarang Semut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Supari, F. 1995. *Radikal Bebas dan Patofisiologi Beberapa Penyakit*. Kerjasama Pusat Studi Pangan dan Gizi dan Kedutaan Besar Prancis, Jakarta.
- Taher, A. 2003. *Peran Fitoestrogen Kedelai Sebagai Antioksidan dalam Penanggulangan Aterosklerosis*. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tapas A.M, D.M Sakarkar and R.b Kakde. 2008. *Flavonoids as Nutraceuticals : A Review*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 7(3):1089-1099.

- Tim Cusnie T.P and A.J Lamb. 2005. *Antimicrobial activity of flavonoids*. International Journal of Antimicrobial Agents 26:343-353.\
- Zinniel, DK., Lambrecht, P., Harris, N. B., Feng, Z., Kuczmariski, D., Higley, P., Ishimaru, C. A., Arunakumari, A., Barletta, R. G., dan Vidaverl, A. K. 2002. *Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68, no. 5. American Society for Microbiology. Plant Pathology Department Papers in Plant Pathology.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

a. Persiapan Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*)



(a) sampel



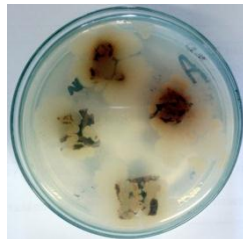
(b) Aquades steril



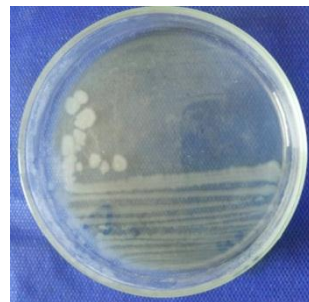
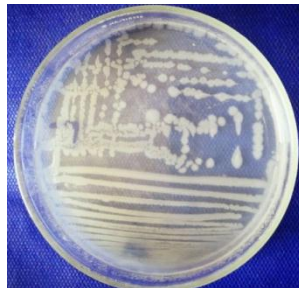
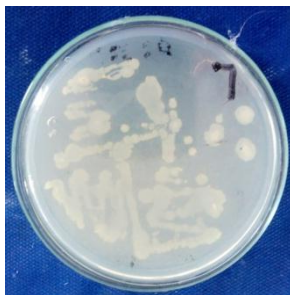
(c) hipoklorit



(d) Etanol

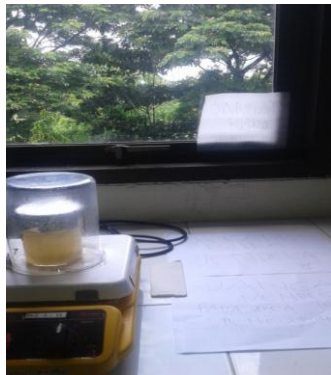


Bakteri yang tumbuh setelah inkubasi 48 jam pada medium NA



Isolat bakteri yang telah dimurnikan pada media NA (*Nutrien Agar*)

b. Pengujian Aktivitas Antioksidan



proses menghomogenkan methanol p.a dan supernatant yang telah difiltrasi menggunakan hot plate selama 24 jam.

persiapan evaporasi



Proses evaporasi dengan menggunakan alat evaporator untuk mendapatkan ekstrak bakteri endofit tanaman sarang semut

Persiapan uji antioksidan



Lampiran Analisis data antioksidan

Bacillus pumilus

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

$$= \frac{1 - 0,58}{1} \times 100\%$$

$$= 0.37\%$$

Bacillus sp (1)

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

$$= \frac{1 - 0,6825}{1} \times 100\%$$

$$= 0.15\%$$

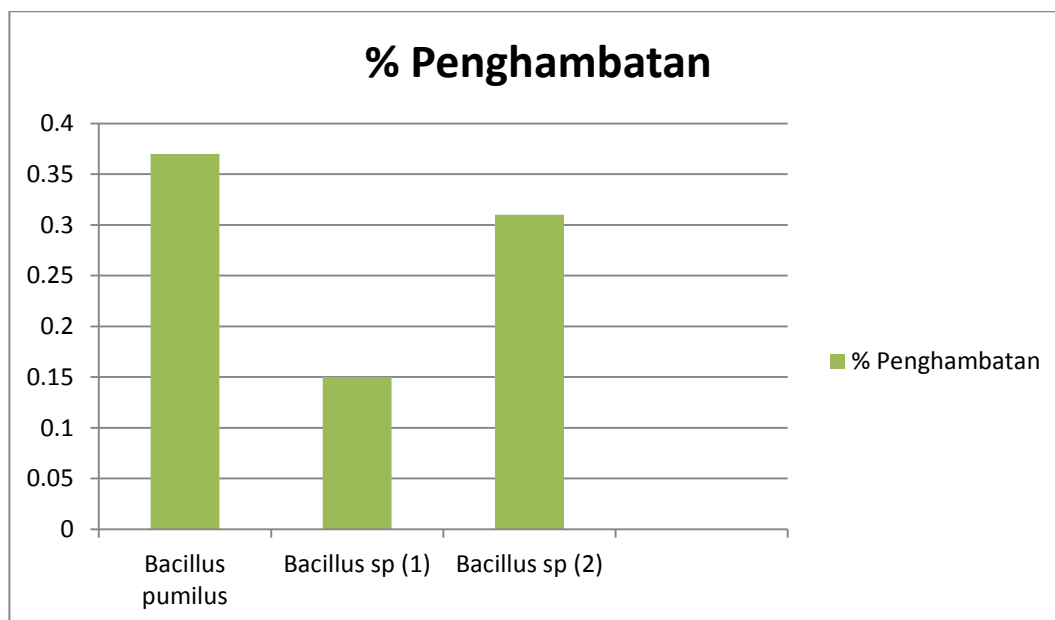
Bacillus sp (2)

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{absorbansi DPPH} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

$$= \frac{1 - 0,6285}{1} \times 100\%$$

$$= 0.31\%$$

Lampiran Diagram Batang



RIWAYAT HIDUP



Nama lengkap RIZKY AWALYA ZHAPUTRI dilahirkan di BULUKUMBA, 2 July 1994, hasil dari buah kasih Abdul Wahab Hamid S.Sos dan Husmayanti Malle S.Sos anak pertama dari 2 bersaudara. Penulis memulai pendidikan SD pada usia 5 tahun di Taman Kanak-kanak Negeri Pembina, dilanjutkan usia 6 tahun di SD Negeri 10 Ela-ela pada tahun 2000-2006, dan melanjutkan di SMP Negeri 1 BULUKUMBA pada tahun 2006-2009. Kemudian melanjutkan pendidikan ke SMAN 1 BULUKUMBA pada tahun 2009. Dan penulis melanjutkan pendidikan ke salah satu perguruan tinggi pada tahun 2012 yaitu Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar dan mengambil jurusan BIOLOGI, Fakultas Sains dan Teknologi. Cita-cita terbesar mengangkat harkat dan martabat keluarga, membahagiakan IBU, berbakti kepada orang tua, dan tentunya bahagia dan selamat dunia akhirat, AMIN.